

TOKSISITAS EKSTRAK METANOL KULIT JENGKOL (*Pithecellobium Jiringa*) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY* *TEST* TERHADAP Larva udang (*Artemia salina*)

Alfin Surya

Program Studi D-3 Analis Kesehatan

Akademi Analis Kesehatan Pekanbaru Jl. Riau Ujung No. 73 Pekanbaru

email : alfin.surya@yahoo.co.id

Abstract

Jengkol plant or better known as Jering plant is included in the family Fabaceae (grain tribe). This plant has the Latin name *Pithecellobium jiringa* with the name of the synonym that is *A. Jiringa*, *Pithecellobium lobatum* Benth., And *Archidendron pauciflorum*. The result of phytochemical scheme of simplicia powder and ethanol extract of jengkol fruit skin showed the chemical composition of alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, glycosides, and steroids / triterpenoids. Tannins and flavonoids are antibacterial active antibodies. Based on research conducted by Nurussakinah in 2010, ethanol extract of jengkol fruit skin can inhibit the growth of *Streptococcus mutans* bacteria, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. Methanol extract Jengkol Skin (*Pithecellobium jiringa*) contains Flavonoid compounds that are thought to have potential as anticancer. This study aims to determine the activity of jengkol skin toxicity with maceration for 72 hours against shrimp larvae (*Artemia salina*) using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method which has correlation in source of new anticancer compound, resulting in Median Lethal Concentration (LC50) for methanol solvent is 126 ppm.

Keywords : Toxicity, Jengkol Skin, Method BSLT

1. Pendahuluan

Kulit Jengkol (*Pithecellobium jiringa*) selama ini tergolong limbah organik yang berserakan di pasar tradisional dan tidak memberikan nilai ekonomis. (Hutasuhut, 13 Maret 2012)..Namun, sebenarnya sudah ada penelitian yang dilakukan terhadap jengkol maupun kulitnya. Para peneliti mencoba memanfaatkan kandungan dalam jengkol maupun kulitnya untuk digunakan dalam kehidupan. Ekstrak etanol kulit jengkol dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* (Nurussakinah, 2010). Senyawa-senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya merupakan senyawa *flavonoid*, *fenolik* dan *alkaloid*. Senyawa *flavonoid* dan *polifenol* bersifat antioksidan, antikanker, antiseptik, dan antiinflamasi. (Nurussakinah, 2010)

Berdasarkan uraian tersebut, maka peneliti tertarik untuk menentukan Toksisitas ekstrak metanol kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina*), karena metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode *Bioassay* yang

menggunkan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Metode tersebut merupakan metode yang banyak digunakan sebagai langkah awal pencarian senyawa antikanker baru. Hasil uji toksisitas dengan metode tersebut telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa anti kanker. Keuntungan dari metode tersebut diantaranya mudah dilakukan, cepat, mudah diperbanyak, dan dapat menunjukkan adanya korelasi terhadap suatu spesifik anti kanker (Nurhayati, dkk. 2006).

2. Landasan Teori

2.1 Morfologi Buah Jengkol

Menurut Nurussakinah (2010) klasifikasi tumbuhan jengkol yang digunakan dalam penelitian ini memiliki taksonomi sebagai berikut :

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Bangsa	: <i>Rosales</i>
Suku	: <i>Fabaceae</i>
Genus	: <i>Pithecellobium</i>
Spesies	: <i>Pithecellobium jiringa</i> (Jack) Prain



Gambar 1 Jengkol

Menurut Nurussakinah (2010) klasifikasi tumbuhan jengkol yang digunakan dalam penelitian ini memiliki taksonomi sebagai berikut :

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Bangsa	: <i>Rosales</i>
Suku	: <i>Fabaceae</i>
Genus	: <i>Pithecellobium</i>
Spesies	: <i>Pithecellobium jiringa</i> (Jack)
<i>Prain</i>	

2.2 Kandungan Kimia Jengkol dan Kulit Jengkol

Kulit buah tumbuhan jengkol (*Pithecellobium lobatum* Benth) dinyatakan mengandung senyawa *flavonoida* berdasarkan hasil skrining fitokimia yang dilakukan dengan pereaksi FeCl_3 1%, NaOH 10%, Mg-HCl , dan $\text{H}_2\text{SO}_4(\text{p})$. Terhadap kulit buah tumbuhan jengkol tersebut dilakukan ekstraksi maserasi menggunakan pelarut methanol (pelarut polar) dan selanjutnya dilakukan ekstraksi partisi dengan menggunakan pelarut n-heksan (non polar) dengan tujuan untuk memisahkan senyawa yang bersifat non polar misalnya lemak (*lipid*) (Hutauruk, 2010).

2.3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. (Utami dkk, 2009). Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstrak senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Utami dkk, 2009). Menurut Utami dkk 2009 ada beberapa cara metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut, yaitu:

Maserasi adalah proses pengekstrakan *simplisia* dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah

dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prosesnya terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahapan maserasi antara, tahap perlokasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat yang tidak meninggalkan sisa bila 500 mg perkolat terakhir diuapkan pada suhu $\pm 50^\circ\text{C}$).

2.4. Uji Toksisitas

2.4.1 *Brine Shrimp Lethality Test*

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode *Bioassay* yang menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Metode tersebut merupakan metode yang banyak digunakan sebagai langkah awal pencarian senyawa antikanker baru. Hasil uji toksisitas dengan metode tersebut telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa anti kanker. Keuntungan dari metode tersebut diantaranya mudah dilakukan, cepat, mudah diperbanyak, dan dapat menunjukkan adanya korelasi terhadap suatu spesifik anti kanker (Nurhayati, dkk. 2006).

2.4.2 Larva Udang (*A. salina* L.)

Salah satu organisme yang sangat sesuai untuk mengetahui bioaktivitas senyawa melalui uji toksisitas adalah *brine shrimp* (udang laut) dari jenis *A. salina* L. *Brine shrimp* merupakan spesies perairan sejenis udang primitif. Pertama ditemukan di Lymington, England pada tahun 1755. *Artemia* bisa ditemukan di pedalaman danau air asin di seluruh dunia, tetapi tidak ditemukan di samudra. *Artemia* yang dikenal dengan baik dan dikembangkan yaitu dari spesies *A. salina* L. (Wiryowidagdo, 2000).

Telur *A. salina*. L. atau cyste berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan basah. Warnanya coklat yang diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat. Cangkang ini berguna untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras, sinar ultraviolet dan mempermudah pengapungan. Cangkang telur *A. salina* L. dibagi dalam dua bagian yaitu korion (bagian luar) dan kutikula embrionik (bagian dalam). Lapisan ketiga dinamakan selaput kutikuler luar yang terdapat di antara kedua lapisan tersebut (Wiryowidagdo, 2000).



Gambar 2 Larva udang *A. salina* L
Sumber : Meyer, dkk 2010

Brine shrimp memiliki klasifikasi sebagai berikut (Meyer, dkk. 2010) :

Kerajaan : Animalia
Divisi : Arthropoda
Subdivisi : Crustacea
Kelas : Branchiopoda
Bangsa : Anostraca
Suku : Artemiidae
Marga : *Artemia* L.
Jenis : *Artemia salina* Leach

Telur *Artemia* dapat mengadsorpsi air, jika tersinari oleh sinar matahari atau pada suhu sekitar 26-28 °C maka akan menetas setelah 24-48 jam tergantung pada kondisi lingkungan. *A. salina* yang baru menetas disebut dengan naupli (larva) yang memiliki ukuran 0,25 mm (0,01 inci). *Artemia* diperdagangkan dalam bentuk telur istirahat yang disebut kista. Kista ini dilihat dengan mata telanjang berbentuk bulat-bulatan kecil berwarna kelabu kecoklatan dengan diameter sekitar 300 mikron. *A. salina* mengalami pubertas selama 8-14 hari dan akan hidup selama 4-5 minggu tergantung pada konsentrasi garam, terlalu banyak garam maka harapan hidup akan berkurang (Woo, 2013).

Hewan ini dapat tumbuh dan berkembang pada air garam. Larutan air garam dapat dibuat dengan melarutkan 30 gram ke dalam 1L air. Banyak orang menggunakan garam biasa untuk membuat medianya tanpa adanya penambahan iodium dan zat kimia lainnya karena dapat memperburuk pertumbuhannya. Air laut merupakan media pertumbuhannya yang lebih baik. Pembiakan *A. salina* dapat dilakukan melalui perkawinan antara *A. salina* jantan dan betina, tetapi *A. salina* juga dapat berkembangbiak tanpa perkawinan. *A. salina* betina dapat mempunyai keturunan sekitar 300 setiap 4 hari. Makanan *A. salina* berupa bubuk alga ataupun ragi (Woo, 2013).

Dalam pemeliharaan *A. salina* makanan yang diberikan adalah: katul, padi, tepung beras, tepung terigu, tepung kedelai dan ragi *Artemia*

hanya dapat menelan makanan yang berukuran kecil yaitu kurang dari 50 mikron. Apabila makanan lebih besar dari ukuran itu, makanan tidak akan tertelan karena *Artemia* mengambil makanan dengan jalan menelannya bulat-bulat. Makanan yang akan ditelan itu dikumpulkan dulu ke depan mulut dengan menggerakkan kakinya. Gerakan kaki dilakukan terus-menerus hingga makanan akan terus bergerak masuk ke dalam mulutnya. Selain untuk mengambil makanan, kakinya berfungsi sebagai alat untuk bergerak dan bernafas (Woo, 2013).

3. Metodologi Penelitian

3.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: mikropipet, lumpang, timbangan analitik, seperangkat alat pembiakan larva udang, vial, aluminium foil, dan alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit jengkol *Pithecellobium jiringa* yang diperoleh dari pasar Rumbai Pekanbaru. Bahan yang digunakan adalah, etil asetat, metanol, aluminium foil dan aquades., Telor udang *Artemia salina*, *Dimethyl sulfoxide* (DMSO).

3.2 Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

3.2.1. Penetasan Udang

Telur udang air asin *A. Salina* L ditetaskan dalam wadah/bejana yang berisi air laut. Bejana tersebut disimpan di ruangan dengan dilengkapi bohlam/lampu dengan aerasi yang baik selama 48 jam pada suhu kamar. Setelah menetas, larva dipisahkan dari kulit telur dan dikumpulkan pada sisi wadah yang terang (dekat dengan sumber cahaya) dengan menggunakan mikropipet.

3.2.2. Uji Toksisitas (Zou, dkk. 2014)

Kista udang *A. salina* L ditetaskan dalam wadah pembiakan yang berisi air laut, dan digunakan setelah 48 jam setelah larva menetas. Pengujian dilakukan dengan konsentrasi 1000, 100, 10 ppm dengan pengulangan masing-masing tiga kali. Sebanyak 40 mg ekstrak uji dilarutkan dalam 4 mL pelarut (larutan induk 10.000 ppm). Pembuatan konsentrasi 1000 ppm dengan cara pengenceran larutan induk 10.000 ppm sebanyak 2 mL ditambahkan metanol hingga 20 mL maka diperoleh konsentrasi ekstrak uji 1000 ppm, kemudian di pipet sebanyak 2 mL konsentrasi 1000 lalu ditambahkan pelarut hingga 20 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100 kemudian konsentrasi 100 diambil 2 mL lalu ditambahkan pelarut hingga 20 mL sehingga diperoleh konsentrasi 10 ppm. Selanjutnya disiapkan 3 vial untuk setiap konsentrasi lalu

diisi masing-masing 5 mL lalu diberi batas kalibrasi. Masing-masing vial uji dibiarkan pelarutnya nya menguap dan mengering. Larutkan kembali ekstrak uji dengan DMSO sebanyak 50 μ L menggunakan pipet mikro, selanjutnya tambahkan air laut hingga batas kalibrasi (5 mL). Masukkan larva udang pada masing-masing vial sebanyak 10 ekor. Kemudian amati larva udang setelah 24 jam. Dari data yang dihasilkan dihitung LC_{50} dengan metode kurva tabel probit.

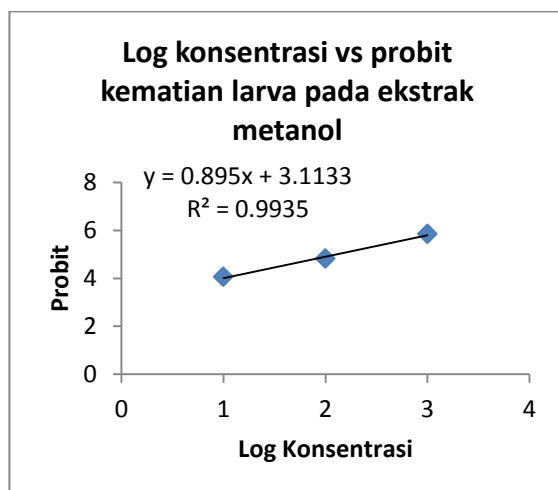
4. Hasil Penelitian

4.1 Hasil

Hasil penelitian yang dilakukan untuk uji toksisitas dengan metode BSLT dari ekstrak Etil Asetat dan Metanol kulit buah Buah Jengkol di dapatkan nilai LC_{50} seperti pada tabel 1

Tabel 1. Aktivitas toksisitas ekstrak metanol kulit buah Jengkol

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Log Kons(x)	Kematian (%)	Nilai Probit (y)	LC_{50} (ppm)
Metanol	10	1	17	4,05	126
	100	2	43	4,82	
	1000	3	80	5,84	



Gambar 3 Konsentrasi vs probit kematian larva pada ekstrak metanol

$$\begin{aligned}
 Y &= 0,895x + 3,113 \\
 5 &= 0,895x + 3,113 \\
 0,895x &= 5 - 3,113 \\
 0,895x &= 1,887 \\
 X &= 2,1 \\
 LC_{50} &= \text{anti log } 2,1 = 126 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

4.2. Pembahasan

Uji Toksisitas metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode yang banyak digunakan sebagai langkah awal pencarian senyawa antikanker baru. Hasil uji toksisitas dengan metode tersebut telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa anti kanker. Keuntungan dari metode tersebut diantaranya mudah dilakukan, cepat, mudah diperbanyak, dan dapat menunjukkan adanya korelasi terhadap suatu spesifik anti kanker (Nurhayati, dkk. 2006).

Pada tabel 1 tersebut dapat diketahui bahwa konsentrasi ekstrak metanol kulit jengkol pada percobaan ini menunjukkan pengaruh yang berbeda terhadap kematian larva *Artemia salina*. Jumlah larva tiap vial uji adalah 10 ekor dan tiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan. Jumlah total larva *Artemiasalina* Leach yang digunakan adalah 100 ekor larva. Larva yang digunakan berumur 48 jam karena pada umur ini anggota tubuh larva sudah lengkap dibandingkan pada saat larva itu menetas. Dalam mengamati pertumbuhan dan perkembangan larva sampai pada pengujian toksisitas ekstrak, digunakan alat bantu untuk mengamati, yaitu kaca pembesar atau lup. Total kematian diperoleh dengan menjumlahkan larva yang mati pada setiap vial dengan konsentrasi yang sama. Hasil analisis probit dengan menggunakan persamaan regresi, menunjukkan LC_{50} dari ekstrak metanol kulit jengkol adalah 126 ppm. Menurut Aras (2013) pada tabel 2 bahwa suatu ekstrak yang memiliki nilai LC_{50} tersebut dikategorikan ekstrak tersebut sangat toksik terhadap larva udang *Artemia salina*

Tabel 2 Nilai probit LC_{50}

NO	Nilai LC_{50} ppm	Tingkat Toksisitas
1	0 – 250	Sangat toksik
2	250 – 500	Toksik
3	500 – 750	Sedang
4	750 – 1000	Lemah

Sumber: Aras, 2013

5. Kesimpulan

Pada penelitian uji toksisitas dapat disimpulkan ekstrak metanol kulit jengkol diperoleh hasil LC_{50} adalah 126 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa sampel sangat toksik terhadap kematian larva udang.

DAFTAR PUSTAKA

- Aras, T. T. 2013. Uji Toksisitas Ekstrak Teripang *Holothuria Scabra* Terhadap *Artemia salina* Leach. *Skripsi*. Universitas Hassanudin. Ilmu Kelautan dan Perikanan. Makasar.
- Hutauruk, J.E., 2010. *Isolasi Senyawa Flavonoida Dari Kulit Buah Tanaman Jengkol (Pithecellobium lobatum Benth.)*, Skripsi, FMIPA, USU
- Hutasuhut, A.B., 2012. Banjir, Jengkol, Rahudman, <http://www.hariansumutpos.com/2012/01/23377/banjir-jengkol-rahudman.html>, 13 Oktober 2014
- Meyer, B. N., Ferrighni, N. R., Putnam, J. E., Jacobson, L.B., Nichols, D. E., dan McLaughlin, J. L. 2010. Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituent. *Planta Me-dica*. Vol 45: Halaman 31 - 34.
- Nurhayati, A.W.K., Abdulgani N, Febrianto R., (2009), "Uji Toksisitas Ekstrak *Eucheuma Alvarezii* terhadap *Artemia Salina* sebagai uji pendahuluan potensi antikanker", *AktaKimindo*. 2.1.41-46.
- Nurussakinah, 2010. *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Tanaman Jengkol (Pithecellobium jiringa (Jack) Prain) Terhadap Bakteri Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus, dan Eschericia coli*, Skripsi, Fakultas Farmasi, USU, Medan
- Utami, S., Kosela, S., dan Hanafi, M., 2006. Efek Peredaman Radikal Bebas 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan Uji Toksisitas Pendahuluan Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach dari Ekstrak Aseton Daging Buah *Sesoot (Garcinia picrorrhiza MIQ.)*, *Jurnal Kedokteran Yarsi*, 14 (3), 2006.
- Wiryowidagdo, S. 2010. *Kimia dan Farmakologi Bahan Alam*. Jakarta, Dirjen Dikti Universitas Indonesia, viii + 399 hlm.
- Woo, H. D dan Kim, J. 2013. Dietary Flavonoid Intake and Risk of Stomach and Colorectal Cancer. *World Journal of Gastroenterology*. 7: 1011-1019.
- Zou, Y.F., HO, G.T.T., Malterud, K.E., Tranle, N.H., Inngjerdigen, K.T., Hildebaresett, Drissadiallo, Michaelsen, T.E., Paulsen, B.S., 2014. Enzyme Inhibition, Antioxidant and Immunomodulatory Activities, and Brine Shrimp Toxicity of Extracts From the Root Bark, Stem Bark and Leaves of *Terminalia Macroptera*. *Journal Of Ethnopharmacolog*. 05. 04.